

УДК 576.893.195 : 576.895.421

**ПЕРВАЯ НАХОДКА МИКРОСПОРИДИИ В ИКСОДОВЫХ КЛЕЩАХ
IXODES RICINUS L. (IXODIDAE) НА ТЕРРИТОРИИ СНГ,
РЕСПУБЛИКА МОЛДОВА**

© Ю. С. Токарев, А. А. Мовилэ

При просмотре иксодовых клещей *Ixodes ricinus* различных популяций, собранных весной 2004 г. на территории Республики Молдова, в одном из сборов в 5 особях (из 13 просмотренных) обнаружены споры микроспоридий. Встречаемость паразитов составляли 3—6 спор на препарат из одного клеща. Принадлежность выявленных спор микроспоридиям подтверждена методом флюоресцентной микроскопии. По наличию диплокариона, характеру окрашивания и размерам эти споры отнесены к «*Nosema*-подобному» типу. По литературным данным, микроспоридии в иксодовых клещах преобладают в самках, собранных в осенний период. Низкая интенсивность инвазии, скорее всего, связана с тем, что были обследованы голодные клещи, собранные весной. В клещах *I. ricinus* и *I. persulcatus*, собранных в Калининградской и Ленинградской областях, микроспоридии обнаружены не были.

Микроспоридии — облигатные внутриклеточные паразиты животных всех систематических типов. В последнее время микроспоридии со все большей частотой выявляются как паразиты человека при иммунодефицитных состояниях (Didier, Bessinger, 1999). Связи случаев заражения человека микроспоридиями с природными очагами циркуляции этих патогенов и возможность заражения теплокровных при иммунодефицитах и микроспоридиями беспозвоночных в естественных условиях не изучены. В то же время известно, что микроспоридия кровососущих комаров *Nosema algerae*, описанная в 1970 г., является паразитом человека и теплокровных животных (Koudela et al., 2001). Кроме того, микроспоридия человека *Trachipleistophora hominis* способна заражать личинок 2 видов кровососущих комаров и передаваться взрослым формам, при этом сохраняя инфекционность по отношению к теплокровным хозяевам (Weidner et al., 1999). В связи с этим возникает острая необходимость изучения микроспоридий у различных членистоногих — переносчиков опасных возбудителей заболеваний человека.

Иксодовые клещи (Ixodidae), в том числе относящиеся к видам рода *Ixodes*, являются переносчиками многих опасных заболеваний человека, таких как энцефалит, Лайм-боррелиоз, эрлихиоз (Успенская и др., 2002; Alekseev, Dubinina, 2003), Q-риккетсиоз (Chicu et al., 2002), и имеют важное медицинское и ветеринарное значение. На территории Центральной Европы (Югославия, Румыния, Словакия и Чехия) были описаны микроспоридии *Nosema slovacica* и *Unikaryon ixodis* у клещей *Ixodes ricinus* и *Dermacentor reticulatus*. Микроспоридии передавались трансвариально и перорально и зара-

жали иксодовых клещей других видов (Řeháček et al., 1996; Weiser et al., 1999). При экспериментальном заражении частично напивавшихся самок *D. reticulatus* микроспоридии вызывали высокий уровень смертности, в связи с чем рассматриваются как возможные регуляторы численности иксодовых клещей (Řeháček et al., 1996).

Для микроспоридий, выявленных в эпителиальных клетках кишечника и слюнных желез клещей *Amblyomma cajennense* и *Anocentor nitens*, питавшихся на кроликах, было показано сходство ультратонкого строения всех стадий жизненного цикла с соответствующими стадиями развития микроспоридий рода *Enccephalitozoon*, широко распространенными паразитами позвоночных, включая человека (Ribeiro, Guimaraes, 1998). Все вышеизложенное послужило основанием для паразитологического анализа иксодовых клещей на территории России и Молдовы с целью выявления микроспоридий для дальнейшей работы с этими патогенами.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Для паразитологического анализа нами были собраны имаго и нимфы *I. ricinus* двух природных популяций с территории Республики Молдова (окраина леса вблизи г. Оргеев и район пос. Ватичи, Оргеевский р-н). Сбор клещей проводился на волокушу в период с 25 по 30 апреля 2004 г. Нимфы первого поколения лабораторной культуры, полученной от самок *I. ricinus*, собранных в Калининградской обл. (пос. Лесное, Курская коса, осень 2003 г.); а также имаго *I. persulcatus*, собранные в Ленинградской обл. (Лисий Нос, станция «Морская», 1999 г.), были любезно предоставлены А. Н. Алексеевым и Е. В. Дубининой (ЗИН РАН). У имаго отбирали гемолимфу путем отрезания ног скальпелем, после чего из клещей готовили давленные препараты в капле забуференного фосфатом физраствора (ЗФР). Из нимф также готовили давленные препараты, гемолимфу не отбирали. Для просмотра свежих препаратов использовали микроскоп АУ-12 с объективами Х20, Х40 и Х90. Для более точной диагностики обнаруженных спор микроспоридий был проведен флюоресцентный анализ с параллельным окрашиванием спор микроспоридии *Paranosema grylli* из лабораторной культуры сверчков ВИЗР (в качестве положительного контроля). Препараты спор фиксировали на стекле абсолютным метанолом в течение 5 мин и высушивали, после чего окрашивали диаминофенилиндолом (ДАФИ) в концентрации 5 мМ в ЗФР в течение 5 мин и 3 раза промывали стекла дистиллированной водой. Окрашенные препараты просматривали в микроскоп Аxioskop-2 (ZEISS) с флюоресцентной приставкой с применением фильтра широкого диапазона, позволяющего визуализировать ДНК-содержащий материал, окрашенный ДАФИ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Нами обнаружены споры микроспоридий в 5 из 13 просмотренных имаго *I. ricinus*, собранных в районе пос. Ватичи. При просмотре 50 нимф лабораторной культуры ЗИН РАН 32 имаго и 10 нимф второй молдавской популяции *I. ricinus* и 18 имаго *I. persulcatus* из Ленинградской обл. споры не выявлены. Интенсивность инвазии клещей микроспоридиями крайне низкая, так как встречаемость паразитов не превышала 3—6 спор на пре-

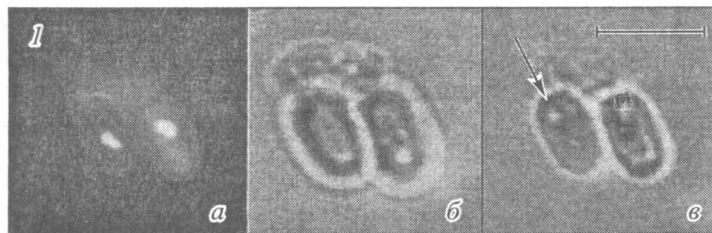


Рис. 1. Споры микроспоридии из *Ixodes ricinus*, окрашивание диаминофенилениндолом (ДАФИ).

a — голубая флюоресценция; *б, в* — масляная иммерсия. Стрелка — предположительно задняя вакуоль. Масштабная линейка — 10 мкм.

Fig. 1. Microsporidian spores from *Ixodes ricinus* stained with diaminophenilenindol (DAPI).

парат из одного клеща. Принадлежность выявленных спор к микроспоридиям подтверждена методом флюоресцентной микроскопии при окрашивании препаратов ДАФИ. Споры содержали хорошо окрашенный диплокарион и имели слабое окрашивание оболочки и содержимого споры (рис. 1, *a*), характерное для «*Nosema*-подобных» спор микроспоридий (рис. 2). В проходящем свете на одном из полюсов споры наблюдался пузырек, идентифицируемый нами как задняя вакуоль (рис. 1, *в*), а при изменении фокуса выявлялась толстая оболочка (рис. 1, *б*), характерная для спор микроспоридий (рис. 2). Хотя обнаруженного числа спор недостаточно для определения средних размеров спор, при сравнении рисунков 1 и 2 видно, что выявленные нами споры соответствуют по размерам спорам *N. grylli*, средняя длина которых составляет $4.3 \pm 0.03 \mu\text{m}$, что близко к значению $4 \pm 0.5 \mu\text{m}$, приведенному для спор *N. slovacae* (Weiser, Reháček, 1975).

Таким образом, нами впервые выявлено заражение иксовых клещей микроспоридиями на территории СНГ. Отсутствие микроспоридий в более северных районах (Калининградская и Ленинградская области) нельзя считать достоверным из-за маленькой выборки. Ранее в 200 напивавшихся имаго *I. ricinus* из коллекции Ленинградского ветеринарного института микроспоридии также не были найдены (Исси И. В., личное сообщение). Республика Молдова, где нами были обнаружены микроспоридии, граничит с Румынией, где наряду с другими странами Центральной Европы находили микроспоридий в иксовых клещах. Низкую интенсивность заражения можно объяснить тем, что в работе были использованы голодные клещи,

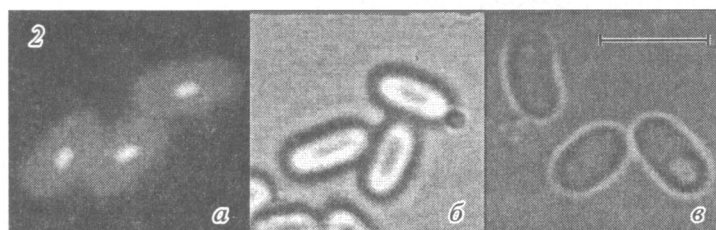


Рис. 2. Споры микроспоридии *Paranosema grylli* из *Gryllus bimaculatus*, окрашивание диаминофенилениндолом (ДАФИ).

Обозначения те же, что и на рис. 1.

Fig. 2. Spores of the microsporidia *Paranosema grylli* from *Gryllus bimaculatus* stained with diaminophenilenindol (DAPI).

собранные весной. Для микроспоридий кровососущих двукрылых известна зависимость спорогенеза от гонотрофического цикла насекомых-хозяев (Исси, 1998). В работах по микроспоридиям иксодид указано, что паразиты преобладали осенью и были выявлены преимущественно в частично напивавшихся самках (Weiser et al., 1999), заражая таковых же (Řeháček, Weise, 1978; Řeháček et al., 1996), что свидетельствует о зависимости развития микроспоридий от гонотрофического цикла клещей.

Наличие диплокариона и размеры спор выявленной микроспоридии позволяют отнести данного паразита к «*Nosema*-подобной» форме. Определение видовой принадлежности микроспоридий из клещей, встречающихся на территории Молдовы, будет возможно при более высоком уровне инвазии, что позволит провести электронно-микроскопический анализ.

Авторы выражают благодарность А. Н. Алексееву, Е. В. Дубининой (ЗИН РАН) и И. Г. Успенской (ННПЦПМ Р. Молдова) за предоставленный для анализа материал, И. В. Исси (ВИЗР РАСХН) — за содействие в диагностике микроспоридий клещей и в обсуждении текста рукописи.

Исследования проведены при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований проект (№ 04-04-49314).

Список литературы

- Исси И. В. Синхронизация жизненных циклов микроспоридий и насекомых // Паразиты в природных комплексах и рисковые ситуации. Новосибирск, 1998. С. 65.
- Успенская И. Г., Коновалов Ю. Н., Мельник В. Н., Мовилэ А. А. Аспекты природной очаговости Лайм-боррелиоза на территории Прут-Днестровского междуречья // Матер. XII съезда РЭО. СПб., 2002. С. 353—354.
- Alekseev A. N., Dubinina H. V. Multiple infections of tick-borne pathogens in Ixodes spp. (Acarina, Ixodidae) // Acta zool. Lituanica. 2003. Vol. 13.
- Chicu V., Uspenski I., Melnic V., Culibacina E., Gutu A., Georgita S., Conovalov Iu., Movila A. Unele particularitati ecologice si epidemiologice ale focarelor urbane de zoonotroponoze // Profilaxia — strategia principala a sanatatii publice. Chisinau, 2002. P. 262—265.
- Didier E. S., Bessinger G. T. Host-parasite relationships in microsporidiosis: animal models and immunology // The microsporidia and microsporidiosis / Ed. by M. Wittner. Washington: D. C., 1999. P. 225—257.
- Koudela B., Visvesvara G. S., Moura H., Vavra J. The human isolate of *Brachiola algerae* (Phylum Microspora): development in SCID mice and description of its fine structure features // Parasitology. 2001. Vol. 123. P. 153—162.
- Řeháček J., Kováčová E., Kocianová E. Isolation of *Nosema slovaca* (Microsporidia) from *Dermacentor reticulatus* ticks (Acari : Ixodidae) collected in Hungary // Exper. Appl. Acarol. 1996. Vol. 19. P. 57—60.
- Řeháček J., Weiser J. Natural infection of the tick *Dermacentor reticulatus* (Fabr.) with the microsporidian *Nosema slovaca* Weiser et Řeháček in Slovakia // Folia Parasitol. 1978. Vol. 25. P. 165—171.
- Ribeiro M. F., Guimaraes A. M. Encephalitozoon-like microsporidia in the ticks *Amblyomma cajennense* and *Anocentor nitens* (Acari : Ixodidae) // Journ. Med. Entomol. 1998. Vol. 35. P. 1029—1033.
- Weidner E., Canning E. U., Rutledge C. R., Meek C. L. Mosquito (Diptera : Culicidae) host compatibility and vector competency for the human myositic parasite *Trachipleistophora hominis* (Phylum Microspora) // Journ. Med. Entomol. 1999. Vol. 36, N 4. P. 522—525.
- Weiser J., Řeháček J. *Nosema slovaca* sp. n.: A second microsporidian of the tick *Ixodes ricinus* // Journ. Invertebr. Pathol. 1975. Vol. 26. P. 411.

Weiser J., Řeháček J., Zizka Z., Ciampor F., Kocianová E. *Nosema slovaca* Weiser et Rehacek, 1975 and *Unikaryon ixodis* (Weiser, 1957) comb. n. in ixodid ticks // *Acta Parasitol.* 1999. Vol. 44, N 2. P. 99—107.

ВИЗР РАСХН,
Санкт-Петербург
Институт зоологии АН,
Республика Молдова, Кишинев

Поступила 16 VII 2004

A FIRST RECORD OF MICROSPORIDIA
IN THE IXODID TICK *IXODES RICINUS* L. (IXODIDAE)
IN THE TERRITORY OF THE CIS, REPUBLIC MOLDOVA

Yu. S. Tokarev, A. A. Mavile

Key words: Microsporidia, *Ixodes ricinus*, Moldova.

SUMMARY

Spores of microsporidia have been recovered in 5 specimens of 13 ixodid ticks *Ixodes ricinus* from various populations of the Republic Moldova collected in spring of 2004. Microsporidia were detected by means of fluorescent microscopy. Intensity of infection was 3—6 spores per a micropreparate from one mite. Based on spore size, character of staining and the presence of diplocarion, these spores are referred to the *Nosema*-like type. Low intensity of infection probably is caused by that fact that ticks were collected in spring period and were unfed.